



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁴ : C07D 311/30, A61K 31/35	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 87/ 02981 (43) Date de publication internationale: 21 mai 1987 (21.05.87)
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR86/00379</p> <p>(22) Date de dépôt international: 7 novembre 1986 (07.11.86)</p> <p>(31) Numéro de la demande prioritaire: 85/16692</p> <p>(32) Date de priorité: 12 novembre 1985 (12.11.85)</p> <p>(33) Pays de priorité: FR</p> <p>(71) Déposants (pour tous les Etats désignés sauf US): CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE (CNRS) [FR/FR]; 15, quai Anatole France, F-75007 Paris (FR). INSTITUT NATIONAL DE LA SANTE ET DE LA RECHERCHE MEDICALE (INSERM) [FR/FR]; 101, rue de Tolbiac F-75013 Paris (FR).</p> <p>(72) Inventeurs; et</p> <p>(75) Inventeurs/Déposants (US seulement) : POTIER, Pierre [FR/FR]; 14, avenue de Breteuil, F-75007 Paris (FR). BENVENISTE, Jacques [FR/FR]; 3, rue la Rochelle, F-75014 Paris (FR). BOURDILLAT, Brigitte [FR/FR];</p>	<p>80, rue de la Roquette, F-75011 Paris (FR).</p> <p>(74) Mandataire: WARCOIN, Jacques; Cabinet Regimbeau, 26, avenue Kléber, F-75116 Paris (FR).</p> <p>(81) Etats désignés: AT (brevet européen), BE (brevet européen), CH (brevet européen), DE (brevet européen), FI, FR (brevet européen), GB (brevet européen), IT (brevet européen), LU (brevet européen), NL (brevet européen), SE (brevet européen), US.</p> <p>Publiée <i>Avec rapport de recherche internationale.</i> <i>Avec revendications modifiées.</i></p>	
<p>(54) Title: PHARMACEUTICAL COMPOSITION CONTAINING HISPIDULINE OR A DERIVATIVE THEREOF AND UTILIZATION OF SUCH COMPOUNDS IN THE PREPARATION OF ANTI-ASTHMATIC COMPOSITIONS</p> <p>(54) Titre: COMPOSITION PHARMACEUTIQUE CONTENANT DE L'HISPIDULINE OU UN DERIVE ET UTILISATION DE CES COMPOSES DANS LA PREPARATION DE COMPOSITIONS ANTI-ASTHMATIQUES</p> <div data-bbox="581 1360 1286 1654" data-label="Chemical-Block"> <p style="text-align: right;">(I)</p> </div> <p>(57) Abstract</p> <p>The present invention relates to hispiduline having the formula (I), its methyl ethers and its demethylated derivative, as well as pharmaceutical compositions containing them and having a broncho-dilating and/or anti-inflammatory activity and/or for external topical application.</p> <p>(57) Abrégé</p> <p>Hispiduline de formule (I), ses éthers méthyliques et son dérivé déméthylé, ainsi que des compositions pharmaceutiques à activité broncho-dilatatrice et/ou anti-inflammatoire et/ou à application topique externe les comportant.</p>		

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AT	Autriche	FR	France	ML	Mali
AU	Australie	GA	Gabon	MR	Mauritanie
BB	Barbade	GB	Royaume-Uni	MW	Malawi
BE	Belgique	HU	Hongrie	NL	Pays-Bas
BG	Bulgarie	IT	Italie	NO	Norvège
BJ	Bénin	JP	Japon	RO	Roumanie
BR	Brésil	KP	République populaire démocratique de Corée	SD	Soudan
CF	République Centrafricaine	KR	République de Corée	SE	Suède
CG	Congo	LI	Liechtenstein	SN	Sénégal
CH	Suisse	LK	Sri Lanka	SU	Union soviétique
CM	Cameroun	LU	Luxembourg	TD	Tchad
DE	Allemagne, République fédérale d'	MC	Monaco	TG	Togo
DK	Danemark	MG	Madagascar	US	Etats-Unis d'Amérique
FI	Finlande				

COMPOSITION PHARMACEUTIQUE CONTENANT DE L'HISPIDULINE OU UN
DERIVE ET UTILISATION DE CES COMPOSES DANS LA PREPARATION
DE COMPOSITIONS ANTI-ASTHMATIQUES

La présente invention concerne un nouveau médicament utile plus particulièrement comme agent broncho-dilatateur, ainsi que les procédés pour sa préparation.

5 La théophylline est l'un des médicaments broncho-dilatateurs les plus utilisés, en particulier dans le traitement des crises d'asthme ainsi que dans le traitement de fond de la maladie asthmatique.

10 La théophylline agit par augmentation du taux intracellulaire d'AMP cyclique en inhibant sa dégradation par la phosphodiesterase. C'est cet accroissement qui est responsable du relâchement de la fibre musculaire lisse, et notamment de la fibre bronchique, base de l'effet broncho-dilatateur du médicament.

15 De plus la théophylline inhibe la dégranulation des mastocytes, empêchant ainsi la libération des médiateurs chimiques du broncho-spasme.

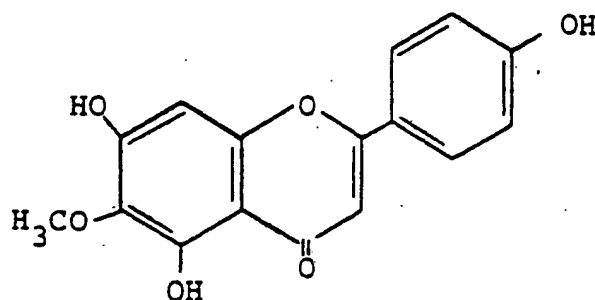
20 Outre la broncho-dilatation, la théophylline provoque un relâchement de la fibre lisse digestive, un effet analeptique cardiaque, une vaso-dilatation artérielle, un effet diurétique, une action psycho-analeptique, une stimulation des centres respiratoires.

L'un des inconvénients majeurs de la théophylline est que la marge existant entre les doses thérapeutiques efficaces et les doses toxiques est relativement faible, ceci gêne, bien entendu, la prescription. En outre la théophylline présente de nombreux effets indésirables, notamment en cas de surdosage, à savoir nausées, vomissements, céphalées, excitation, insomnies, tachycardie, qui sont notamment liés aux activités annexes de ce produit.

Néanmoins, malgré ces inconvénients, ce produit reste le traitement de choix dans les crises d'asthme et le traitement de fond des maladies asthmatiques.

La présente invention a pour objet un nouveau produit pharmaceutique qui peut être utilisé comme broncho-dilatateur et notamment dans le traitement de l'asthme, tant au-niveau de la crise que comme traitement de fond, éventuellement utilisé en remplacement de la théophylline dans ses autres applications de même type.

La présente invention repose sur la mise en évidence de l'activité broncho-dilatatrice du composé dénommé Hispiduline de formule :



ainsi que ses éthers méthyliques et son dérivé déméthylé.

C'est pourquoi la présente invention concerne les composés précédents à titre de médicaments, les compositions pharmaceutiques les contenant et leur utilisation, en particulier, dans la préparation de compositions broncho-dilatatrices, en particulier anti-asthmatiques.

Il convient de remarquer qu'outre leurs propriétés broncho-dilatatrices, les composés selon l'invention présentent d'autres propriétés pharmacologiques, notamment des propriétés anti-inflammatoires locales.

5 L'Hispiduline et ses dérivés mentionnés précédemment sont également utiles dans les compositions pour application topique externe, qu'elles soient cosmétiques ou dermatologiques.

10 L'Hispiduline en elle-même est connue et a déjà été isolée à partir des plantes, mais sans qu'on ait pu mettre en évidence l'activité pharmacologique qui sera décrite ci-après.

L'Hispiduline peut être obtenue de différentes façons.

15 Tout d'abord, il est possible d'en effectuer la synthèse par des procédés qui ont déjà été décrits ou par l'adaptation de procédés qui sont également connus.

En particulier, les synthèses suivantes sont connues pour la préparation de l'Hispiduline :

- 20 . la synthèse par réaction de Hoesch sur l'irétol, Phadke et al., Indian J. Chem. 5, 131 (1967) ;
 . la synthèse par condensation type Baker - Venkataraman, Fukui et al., J. Sci. Hiroshima Univ., Ser. A-II, 33, 305 (1969) ;
25 . la synthèse de Iinuma et al., Chem. Pharm. Bull., 32, 4935 (1984) ;
 . la synthèse de Ahluwalia et al., Indian J. Chem., 14B, 592 (1976).

30 Les rendements de ces synthèses sont faibles mais permettent la préparation de l'Hispiduline.

Les exemples ci-après donneront une idée des procédés qui peuvent être mis en oeuvre pour la synthèse de l'Hispiduline.

Le produit peut, en outre, être préparé par extraction à partir de différentes plantes dans lesquelles il est connu que se trouvent des quantités variables d'Hispiduline.

5 Parmi ces plantes, il faut citer notamment plusieurs espèces appartenant aux genres botaniques :

Ambrosia

Arnica

Baldvina

10 Centaurea

Digitalis

Eupatorium

Flourensia

Helenium

15 Iva

Nepeta

Millingtonia

Plantago

Scutellaria

20 Salvia, etc.

Les exemples ci-après mettront en évidence des processus d'extraction permettant de préparer une Hispiduline utilisable à titre de médicament.

25 En particulier, à partir de la plante, un premier extrait à l'alcool, éther ou cétone est ensuite traité par un solvant chloré. Cet extrait au solvant chloré contient l'Hispiduline qui peut être séparée par chromatographie.

30 L'Hispiduline, comme la théophylline, peut être utilisée dans des compositions pharmaceutiques applicables par différentes voies, en particulier

l'Hispiduline peut être administrée par voie orale, par voie rectale ou même par injection.

Il est également possible de prévoir, notamment dans le traitement des crises asthmatiques, l'utilisation de la voie aérosol.

La mise en forme galénique de l'Hispiduline peut être réalisée par des processus connus et avec des excipients adaptés à chacune des voies mises en oeuvre, tenant compte des propriétés de solubilité de l'Hispiduline.

Les posologies mises en oeuvre dépendront, bien entendu, de l'état du patient et du type de maladie qui doit être traité et de la nature du traitement, traitement de fond, traitement des crises paroxystiques.

Compte tenu de l'activité très importante de l'Hispiduline, la posologie à mettre en oeuvre sera moins contraignante qu'avec des produits tels que la théophylline.

Les exemples ci-après permettront de mettre en évidence d'autres caractéristiques et avantages de la présente invention.

EXEMPLE 1

Préparation de l'Hispiduline par extraction de fleurs d'Arnica

a) On fait macérer 50 kg de fleurs séchées d'Arnica montana dans de l'alcool éthylique à 60°. L'extraction est effectuée par lot de 17 kg, successivement 300, 200, 180 et 150 l d'alcool éthylique.

L'extrait est alors traité avec un mélange d'eau et dichlorométhane (400 l CH_2Cl_2 /200 l H_2O). L'extraction est effectuée par 6 kg.

La phase CH_2Cl_2 représentant environ 1,7 kg, c'est-à-dire 3,4 % du poids total de la plante, contient la fraction active Hispiduline.

Cette phase CH_2Cl_2 va être fractionnée par chromatographie afin d'en isoler l'Hispiduline.

On utilise pour ce faire une colonne de 220 mm d'une hauteur d'environ 1,50 m contenant 19 kg de silice 7734 Merck 60 préparé avec un volume d'hexane d'environ 100 l. Le produit est fixé sur la silice par mise en pâte avec celle-ci.

On effectue ensuite une élution avec les solvants suivants :

10	<u>Solvant</u>	<u>Volume</u> (l)	<u>Extrait</u> (g)	<u>% CH_2Cl_2</u>	<u>% d'inhibition</u>
	hexane	200	0		
	toluène	200	390	23	27,5
	CH_2Cl_2	550	690	40,5	65
			100)		
15	éther	500	220)	19	62
			54)		
	AcOEt	200	70		41
	MeOH	150	207		

L'Hispiduline se trouve dans la fraction éther, à la fois par chromatographie et par mesure de l'inhibition de l'agrégation plaquettaire sur plaquettes de lapins (qui est proportionnelle à la teneur en Hispiduline).

Le produit ainsi obtenu est, après analyse et comparaison avec des échantillons préparés par la technique synthétique qui sera décrite ci-après, identifié à l'Hispiduline ayant les propriétés physico-chimiques suivantes :

- P.M. : 300
- Point de fusion : 287-290°C
- 30 - UV : 275 nm, 338 nm
- Microanalyse : 64 % C ; 4 % H ; 32 % O
- Cristallise dans MeOH

- C.C.M. : dp à 366 nm, visible à 254 nm
jaune à H_2SO_4
Rf : 0,28 à CH_2Cl_2 95 / MeOH5.

EXEMPLE 2

5 Activité pharmacologique

Les propriétés les plus remarquables de l'Hispiduline sont, comme cela a été dit précédemment, la relaxation du tonus de base du muscle lisse et l'inhibition de la dégranulation immunologique des mastocytes.

10 Ces propriétés faisant de l'Hispiduline un broncho-dilatateur de choix supérieur à la théophylline avec laquelle elle sera comparée dans les exemples qui suivent.

15 Les mesures ont été effectuées de la façon suivante : Les trachées utilisées proviennent de cobayes mâles albinos ou bien sont des échantillons de tissus pulmonaires provenant d'interventions chirurgicales sur des patients humains.

20 Les trachées ou les muscles lisses pulmonaires humains sont préparés et découpés en spirale. Les spirales sont fixées par leur extrémité de façon à obtenir une force de 8 g pour la trachée de cobaye et 2 à 8 g pour la bronche humaine. Elles sont stockées chacune dans une cuve à organe isolé remplie de 10 ml de tampon Tyrode oxygéné
25 (95 % d' O_2 , 5 % de CO_2) et thermostatées à 37°C. Après 90 minutes d'équilibration la longueur des spirales est mesurée. Des capteurs isométriques et des physiographes sont utilisés pour enregistrer les changements de force.

Relaxation du tonus de base

30 L'effet relâchant d'une molécule sur le tonus de base a été observé en l'ajoutant sur la préparation du muscle préalablement équilibré.

La relaxation d'une contraction induite est effectuée en stimulant les préparations avec la dose maximale d'agoniste, en l'occurrence l'histamine. Quand le plateau est atteint, les molécules à étudier sont ajoutées dans le bain à des concentrations croissant toutes les 5 minutes.

Enfin, l'inhibition des contractions est mesurée de la façon suivante :

Pour observer l'inhibition les préparations sont contractées avec l'un des agonistes choisis à la dose maximale ou submaximale, puis lavées. Elles sont préincubées pendant 30 minutes avec la molécule à étudier et contractées dans les mêmes conditions que précédemment. Les hauteurs des contractions à l'agoniste, avant et après l'incubation, sont mesurées.

Calcul des réponses

Les préparations n'étant pas homogènes, il était nécessaire d'uniformiser les réponses obtenues en tenant compte des variations précédentes.

Les réponses obtenues sont exprimées en g/mm^2 , après avoir divisé la réponse mesurée en g par le rapport poids humide/longueur.

Pour les protocoles d'inhibition, la contraction après incubation est exprimée en % de la première contraction qui exprime un pourcentage d'inhibition.

La relaxation est exprimée en pourcentage de la contraction maximale obtenue avec l'agoniste utilisé. La concentration permettant d'obtenir 50 % de la réponse maximale (EC50) caractérise la sensibilité de la préparation à la molécule étudiée et est mesurée par interpolation de la courbe obtenue (pourcentage de relaxation en fonction du logarithme décimal de la concentration).

Les résultats observés ont été les suivants :
RELAXATION DU TONUS DE BASE DU MUSCLE - TRACHEE DE COBAYE

	<u>PRODUITS</u>	<u>REPONSE</u> (g/mm ²) ($\bar{X} \pm \text{SEM}$) (N)	<u>RAPPORT</u>
	Tampon	- 0,05 \pm 0,02 (8)	1
5	Théophylline 10 ⁻⁴ M	- 0,12 \pm 0,04 (13)	2,5
	Hispiduline 10 ⁻⁴ M	- 0,24 \pm 0,04 (8)	5

RELAXATION D'UNE CONTRACTION INDUITE PAR HISTAMINE
TRACHEE DE COBAYE - COURBES DOSE-REPONSE SIGNIFICATIVEMENT
SUPERPOSABLES

	<u>HISPIDULINE</u>	<u>THEOPHYLLINE</u>
10	EC 50	
	8 \pm 2 x 10 ⁻⁵ M	5,5 \pm 1 x 10 ⁻⁵ M

Inhibition de la dégranulation immunologique des
mastocytes de la moëlle osseuse des souris

Pour la mesure de l'inhibition de cette
 15 dégranulation, on a utilisé deux marqueurs de dégranulation :
 - un marqueur enzymatique : la β -hexosaminidase,
 - le médiateur libéré : Paf.acéther.

Les expériences sont effectuées schématiquement
 de la façon suivante :

20 On constitue, à partir de cellules de moëlle
 osseuse de fémurs de souris par cultures successives, une
 culture virtuellement pure en mastocytes.

L'expérience proprement dite est effectuée de
 la façon suivante :

25 Protocole expérimental

Les mastocytes en suspension dans du tampon
 tyrode gélatine (TG), après comptage, sont distribués de
 façon à avoir 1 x 10⁶ cellules/tube dans 100 μ l.

30 100 μ l IgE anti-DNP (dilué au 1/100/aliquot)
 sont ajoutés de façon à sensibiliser les cellules.

Les tubes sont incubés 1 heure à 37°C dans une étuve avec CO₂ et agités manuellement toutes les 15 minutes. Les cellules sont lavées 3 fois par centrifugation à 300 g pendant 5 minutes avec du TG. Lors de la dernière centrifugation, les cellules sont resuspendues dans 400 µl de TG avec 1'albumine de sérum bovin (BSA).

Après une incubation des cellules pendant 15 minutes au bain-marie, avec 50 µl des solutions à tester ou 50 µl des solvants utilisés (tubes témoins), 50 µl d'antigène DNP ($\bar{A}g$ finale = 40 ng/ml) sont ajoutés dans les tubes dits stimulés, et 50 µl de tampon TG BSA sont ajoutés aux tubes dits non stimulés, et l'incubation est poursuivie pendant 5 minutes sous agitation. La réaction est arrêtée dans la glace par l'addition de 10 µl d'EDTA (4 mM concentration finale).

Les tubes sont centrifugés à 300 g pendant 5 minutes à 4°C. Les surnageants sont récupérés et les culots repris dans 500 µl de TG BSA et soniqués 3 fois 5 secondes.

Dosage de la libération de la β -hexosaminidase

50 µl de surnageant ou de solution culot sont additionnés à 450µl de substrat β -hexosaminidase et mis 1 heure à 37°C au bain-marie, sans agitation. La réaction est arrêtée avec 1,5 ml de solution d'arrêt pour chaque tube.

L'activité de la β -hexosaminidase dans les culots et les surnageants est mesurée au spectrophotomètre à 410 nm et le pourcentage net de libération a été calculé selon la formule :

$$\frac{\text{DO surnageant activé} - \text{DO contrôle} \times 100}{(\text{DO surnageant activé} + \text{DO culot}) - \text{DO surnageant contrôle}}$$

(DO = densité optique).

Dosage de la libération de Paf.acéther

Les surnageants sont testés directement sur l'agrégation des plaquettes lavées de lapin et traitées par l'aspirine (0,1 mM pendant 15 minutes).

La mesure est effectuée dans un agrégamètre en présence du complexe CP/CPK.

Une gamme étalon est effectuée avec des quantités connues de Paf.acéther synthétique.

Les résultats sont exprimés en équivalent ng de Paf.acéther calculés par rapport à la gamme précédente.

La quantité de Paf. des témoins, cellules stimulées dans du sérum physiologique, est maximale dans ces tubes et sera le 0 % d'inhibition de la libération de Paf. Le pourcentage d'inhibition des autres tubes pourra être ainsi déduit.

Les résultats observés sont les suivants :

<u>PRODUITS</u>	<u>β-HEXOSAMINIDASE</u>		<u>Paf.ACETHER</u>	
	<u>CI 50</u>	<u>RAPPORT</u>	<u>CI 50</u>	<u>RAPPORT</u>
Théophylline	$4,5 \pm 1,5 \times 10^{-4} \text{ M}$ (N = 4)	1	$2,2 \pm 0,8 \times 10^{-4} \text{ M}$ (N = 3)	1
Hispiduline	$4,9 \pm 1 \times 10^{-5} \text{ M}$ (N = 5)	10	$4,8 \pm 1 \times 10^{-5} \text{ M}$ (N = 4)	5

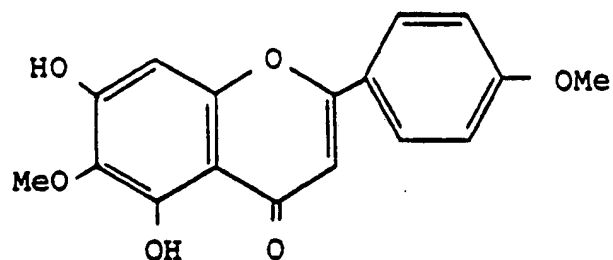
N = nombre d'expériences

On a, en outre, vérifié qu'aux doses très fortes d'Hispiduline, c'est-à-dire 10^{-4} M , ou de la théophylline, 10^{-3} M , il n'y avait pas de lyse cellulaire.

Des résultats des expériences précédentes, il ressort que l'Hispiduline se présente, dans le domaine des agents broncho-dilatateurs, comme très supérieure à la théophylline.

EXEMPLE 3

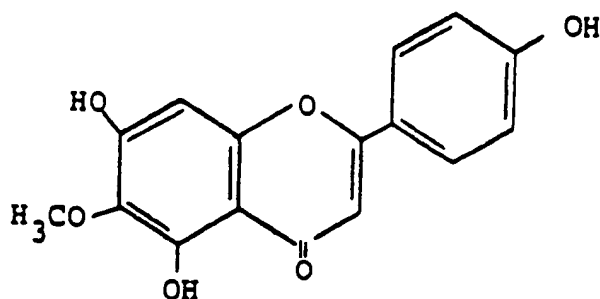
Des essais ayant été conduits avec la
pectolinarigénine



5 ont montré que sur le muscle lisse de trachée de cobaye
la pectolinarigénine à 10^{-4} M relâche à 70 % une contraction
maximale due à l'histamine.

REVENDECATIONS

1) A titre de médicament, l'Hispiduline de formule :



ses éthers méthyliques et son dérivé déméthylé.

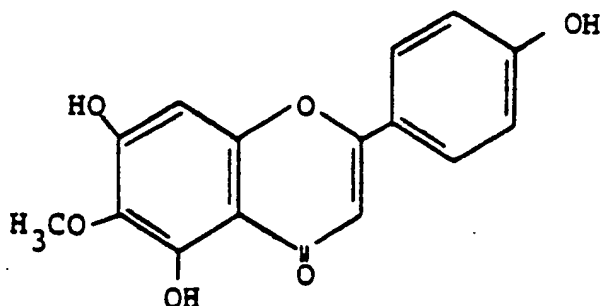
2) Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comporte à titre de principe actif un médicament selon la revendication 1.

3) Utilisation de l'Hispiduline, de ses éthers méthyliques et/ou de son dérivé déméthylé pour la préparation de compositions pharmaceutiques broncho-dilatatrices

4) Utilisation de l'Hispiduline, de ses éthers méthyliques et/ou de son dérivé déméthylé pour la préparation de compositions pharmaceutiques anti-inflammatoires.

5) Utilisation selon la revendication 3, caractérisée en ce que les compositions pharmaceutiques sont à activité anti-asthmatique.

6) Composition pour application topique externe, caractérisée en ce qu'elle comporte à titre de principe actif au moins un composé de formule :



ses éthers méthyliques et son dérivé déméthylé.

7) Composition pour application topique externe selon la revendication 6, caractérisée en ce qu'il s'agit d'une composition cosmétique.

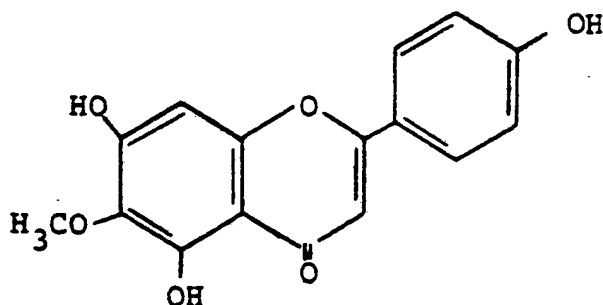
REVENDICATIONS MODIFIEES
[reçues par le Bureau international le 2 avril 1987 (02.04.87);
revendications originales 1-7 remplacées par des revendications modifiées 1-5 (1 page)]

1) Utilisation de l'Hispiduline, de ses éthers méthyliques et/ou de son dérivé déméthylé pour la préparation de compositions pharmaceutiques broncho-dilatatrices.

2) Utilisation de l'Hispiduline, de ses éthers méthyliques et/ou de son dérivé déméthylé pour la préparation de compositions pharmaceutiques anti-inflammatoires.

3) Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que les compositions pharmaceutiques sont à activité anti-asthmatique.

4) Composition pour application topique externe, caractérisée en ce qu'elle comporte à titre de principe actif au moins un composé de formule :



ses éthers méthyliques et son dérivé déméthylé.

5) Composition pour application topique externe selon la revendication 4, caractérisée en ce qu'il s'agit d'une composition cosmétique.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR86/00379

I. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER (If several classification symbols apply, indicate all) ⁶		
According to International Patent Classification (IPC) or to both National Classification and IPC Int.Cl. ⁴ C 07 D 311/30; A 61 K 31/35		
II. FIELDS SEARCHED		
Minimum Documentation Searched ⁷		
Classification System	Classification Symbols	
Int.Cl. ⁴	C 07 D 311/00; A 61 K 31/00	
Documentation Searched other than Minimum Documentation to the Extent that such Documents are Included in the Fields Searched ⁸		
III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT ⁹		
Category ⁹	Citation of Document, ¹¹ with indication, where appropriate, of the relevant passages ¹²	Relevant to Claim No. ¹³
X	Patents Abstracts of Japan, vol. 9, no. 138 (C-286) (1861), 13 June 1985, & JP, A, 6025923 (OTSUKA SEIYAKU K.K.) 08-02-1985, see the abstract "Derwent"	1-6

X	Chemical Abstracts, vol. 102, 1985, (Colum- bus, Ohio, US) Y.Oshima et al.: "Liver protective drugs. 13 . Antihepatotoxic principles of salvia plebeia herbs", see page 62, abstract 56094a, & Shoyakugaku Zasshi 1984, 38 (2), 201-2	1,2,6

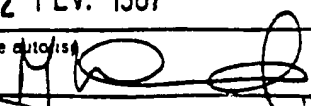
X	Chemical Abstracts, vol. 86, 1977, (Columbus Ohio, US) F.Tillequin et al.: "Isolation of 5-hydroxy-4', 6,7-trimethoxyflavone from Phyllarthron madagascariense (Bignoniaceae) leaves", see page 366, abstract 161175b, & Planta Med. 1977, 31(1), 76-9	1,2,6

A	Chemical Abstracts , vol. 91, 1979, (Columbus, Ohio, US) L.A. Gumenyuk et al.:	
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>¹⁰ Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"&" document member of the same patent family</p> </div> </div>		
IV. CERTIFICATION		
Date of the Actual Completion of the International Search	Date of Mailing of this International Search Report	
20 January 1987 (20.01.87)	12 February 1987 (12.02.87)	
International Searching Authority	Signature of Authorized Officer	
European Patent Office		

III. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT (CONTINUED FROM THE SECOND SHEET)			-2-
Category *	Citation of Document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to Claim No	
	"Russian houseleek-new source of biologically active compounds", see page 417, abstract 87358y, & Farm. Zh. (Kiev) 1979 , (3) , 72-3	1,2	

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale N° PCT/FR 86/00379

I. CLASSEMENT DE L'INVENTION (si plusieurs symboles de classification sont applicables, les indiquer tous) ⁷		
Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB		
CIB ⁴ : C 07 D 311/30; A 61 K 31/35		
II. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTÉ		
Documentation minimale consultée ⁸		
Système de classification	Symboles de classification	
CIB ⁴	C 07 D 311/00; A 61 K 31/00	
Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où de tels documents font partie des domaines sur lesquels la recherche a porté ⁹		
III. DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS ¹⁰		
Catégorie [*]	Identification des documents cités, ¹¹ avec indication, si nécessaire, des passages pertinents ¹²	N° des revendications visées ¹³
X	Patents Abstracts of Japan, volume 9, no. 138 (C-286)(1861), 13 juin 1985, & JP, A, 6025923 (OTSUKA SEIYAKU K.K.) 08-02-1985, voir le résumé "Derwent"	1-6
X	-- Chemical Abstracts, volume 102, 1985, (Columbus, Ohio, US), Y. Oshima et al.: "Liver protective drugs. 13. Antihepatotoxic principles of salvia plebeia herbs", voir page 62, abrégé 56094a, & Shoyakugaku Zasshi 1984, 38(2), 201-2	1,2,6
X	-- Chemical Abstracts, volume 86, 1977, (Columbus, Ohio, US), F. Tillequin et al.: "Isolation of 5-hydroxy-4',6,7-trimethoxyflavone from Phyllarthron madagascariense (Bignoniaceae) leaves", voir page 366, abrégé 161175b, & Planta Med. 1977, 31(1), 76-9	1,2,6
A	-- Chemical Abstracts, volume 91, 1979 ./..	
<div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>[*] Catégories spéciales de documents cités: ¹¹</p> <p>« A » document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent</p> <p>« E » document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date</p> <p>« L » document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)</p> <p>« O » document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens</p> <p>« P » document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée</p> </div> <div style="width: 45%;"> <p>« T » document ultérieur publié postérieurement à la date de dépôt international ou à la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention</p> <p>« X » document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive</p> <p>« Y » document particulièrement pertinent: l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier.</p> <p>« & » document qui fait partie de la même famille de brevets</p> </div> </div>		
IV. CERTIFICATION		
Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée	Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale	
20 janvier 1987	12 FEV. 1987	
Administration chargée de la recherche internationale	Signature du fonctionnaire autorisé	
OFFICE EUROPEEN DES BREVETS	M. VAN MOL 	

III. DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS ¹⁴ (SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUÉS SUR LA DEUXIÈME FEUILLE)		
Catégorie	Identification des documents cités, ¹⁵ avec indication, si nécessaire des passages pertinents ¹⁷	N° des revendications visées ¹⁶
	(Columbus, Ohio, US), L.A. Gumenyuk et al.: "Russian houseleek-new source of biologically active compounds", voir page 417, abrégé 87358y, & Farm. Zh. (Kiev) 1979, (3), 72-3	1,2

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☒ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.